

树鼩 (*Tupaia belangeri chinensis*)

精子发生的细胞学观察

曹筱梅

(中国科学院昆明动物研究所)

摘 要

对8只成体树鼩的睾丸进行了精子发生的细胞学和动力学观察。精原细胞可区分为A型和已分化定向的B型。生精上皮周期可分为12个连续阶段,不同阶段典型的细胞组合可被辨认。各阶段的相对持续时间以阶段V、VI、VII的比率最高,分别为11.43、18.88、15.44;阶段IX、X最低,为3.78和3.87。A型精原细胞在各阶段的数量分布并不保持恒定,阶段VI—VII和阶段IX时,分别出现两次成倍增长。B型精原细胞和前细线期精母细胞与每100个足细胞之比值的平均值,在阶段I、V、VII分别为28.89、76.98、196.99。精细胞经14步变态为成熟精子。精子形成过程中顶体发育的形态学变化及成熟精子的形态,与灵长类动物相比具有较多的类似之处;而同啮齿类动物相比,存在明显的形态差异。

关键词 树鼩 精子发生 生精上皮周期 细胞组合动力学 生殖细胞形态学

本文报告了树鼩精子发生过程中的细胞形态学与动力学的初步观察结果,并与其它动物特别是灵长类动物作了比较,并进行了有关讨论。

材 料 与 方 法

(一) 制片

取8只体重为94—121克野外捕来的成体雄性树鼩的睾丸,用Bouin's液固定,石蜡包埋,切片厚5 μ m, PAS-H (Harris' or Weigert's 苏木精) 技术染色。为便于比较,同时取恒河猴、大鼠、小鼠的睾丸以同法制片。

(二) 观察方法

1. 组成生精上皮周期的各阶段 (Stages) 主要根据精细胞发育的头12步的形态特

征和 PAS 染色阳性的顶体结构来区分 (Clermont 等, 1959; Clermont, 1969)。

2. 生精上皮周期各阶段的相对持续时间 (%) 观察了 8 只动物的周期各阶段出现频率的平均值, 每只动物平均分析 3900 个横的或接近于横的精小管切面。

3. 精原细胞、前细线期精母细胞及足细胞的计数 按 Clermont 等 (1973) 的方法并略有改良。观察了 5 只动物, 共 1347 个横的或接近横的精小管切面。只统计具较大直径的精原细胞和前细线期精母细胞的核和有核仁的足细胞核。

4. 各级生精细胞的分类和鉴别 主要根据: 1) 细胞核的形态, 包括核的形状、核内染色质的形态特征及分布、核仁的形态及位置。2) 细胞在精小管内的地理位置。3) 所出现的阶段。

结 果

〈一〉生精上皮周期

1. 生精上皮的 12 个连续阶段及其典型细胞组合 同灵长类动物一样, 树鼯的生精上皮周期可区分为 12 个连续阶段。如表 1 所示, 精细胞发育的头 12 步正好经历一个上皮周期, 不同步的精细胞有其各自的形态特征, 因而周期的 12 个阶段随之可别。

表 1
Table 1 不同发育阶段精细胞的主要特征
Characteristics of the spermatids in the 14 steps
of spermiogenesis

阶段 (Stage)		精 细 胞 (Spermatids)	
步* (Step)	特 征 (Characteristics)	步* (Step)	特 征 (Characteristics)
I	1 未见或可见界限不分明的高尔基区		
II	2 高尔基区界限分明, 内有数个前顶体颗粒		
III	3 单个的大而圆的顶体颗粒靠近胞核	13	扁平、桨状的核部分地被顶体所覆盖
IV	4 顶体颗粒平展, 覆盖达核表面 1/6 以上		
V	5 头帽上有一顶体颗粒样的凸出; 头帽覆盖达核面 1/4 以上		
VI	6 头帽覆盖达核表面 1/2	14	残余胞浆排脱和成熟精子排放
VII	7 头帽覆盖达核表面 1/2 以上		
VIII	8 头帽转向基底膜, 核略变长		
IX	9 核变尖, 头帽覆盖变尖的部分		
X	10 核开始展平, 头帽覆盖的部分呈锥状		
XI	11 核明显展平		
XII	12 核已完全展平		

* 1—3, 高尔基期; 4—7, 帽期; 8—12, 顶体期; 13—14, 成熟期。

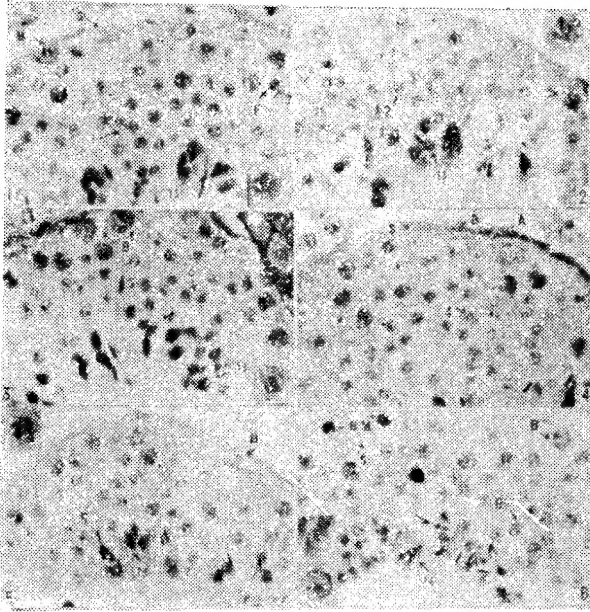


Fig. 1—12 Photomicrographs of cell associations in the 12 stages of the cycle of the seminiferous epithelium in tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*). Inserts show development of the acrosome for the respective stages.

Fig. 1 Stage I. B, type B spermatogonia; P, pachytene spermatocytes; steps 1 and 13 spermatids are present at the same time; S, Sertoli cell.

Fig. 2 Stage I. Steps 2 and 13 spermatids appear in this stage.

Fig. 3 Stage II. Steps 3 and 13 spermatids are visible in this stage.

Fig. 4 Stage IV. A, type A spermatogonia; B shows mitotic activity; 4, step 4 spermatids.

Fig. 5 Stage V. 5, 13, steps 5 and 13 spermatids.

Fig. 6 Stage VII. B, the latest B; BM, dividing B; step 14 spermatids are being released; 6, step 6 spermatids; arrow shows the residual bodies (Rb).

不同阶段的典型细胞组合及其形态特征见图 1a 和图 1—12。A 型精原细胞出现于周期的各阶段。B 型精原细胞出现在阶段 X 至下一周期的阶段 VI。前细线期精母细胞 (Pl) 始于阶段 VI 的晚期, 主要出现在阶段 VII。细线期精母细胞 (L) 出现于阶段 VIII—IX。偶线期精母细胞 (Z) 始于阶段 IX, 多见于阶段 X—XI。粗线期精母细胞 (P) 始于阶段 XI, 主要出现在阶段 XII 至下一周期的阶段 XI。第二次成熟分裂发生于阶段 XII。精细胞经 14 步 (steps) 变态为成熟精子。精子排放主要出现在阶段 VI。

2. 生精上皮周期各阶段的相对持续时间 (%) 周期各阶段的频率分布见表 2。阶段 VI、VII 出现率最高, 阶段 IX、X 最低。树鼩与恒河猴、短尾猴和橄榄狒相比较, 相对持续时间的最高和最低比率的分布点不在相同的阶段上。但阶段 VII 的出现率都处在较高的水平上。

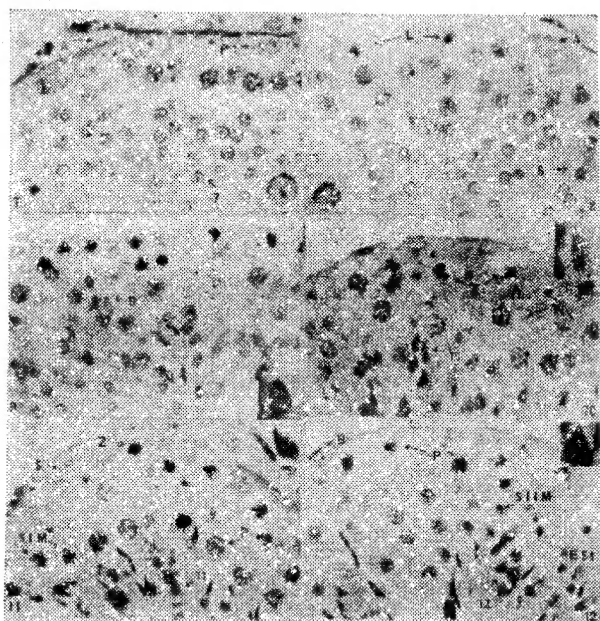


Fig. 7 Stage VII. Two arrows show the chain of 4 A spermatogonia; Pl, preleptotene spermatocytes; 7, step 7 spermatids.

Fig. 8 Stage VII. Paired A; L, leptotene spermatocytes; 8, step 8 spermatids.

Fig. 9 Stage VIII. 9, step 9 spermatids.

Fig. 10 Stage X. Z, zygotene spermatocytes; 10, step 10 spermatids.

Fig. 11 Stage XI. P, the latest pachytene; SIM, the first meiosis metaphase; 11, step 11 spermatids.

Fig. 12 Stage XII. P, the earliest P; SII, secondary spermatocytes; SIIM, the second meiosis metaphase; Est, the earliest spermatids.

13	13	13	13	13	14						
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P, or P, Di, SIM	SII, * SIIM, Est, SIM
B	B	B	B	B	B, or B, Pl	Pl	L	L, or L, Z	Z	Z, or Z, P	P
A	A	A	A	A	A	A	A	A	B A	B A	B A
I	I	II	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII

Fig. 1a Cell Associations in Different Stages of the Cycle in the Tree Shrew, *Tupaia belangeri chinensis*. I—XII = Typical cell associations in the 12 stages of the cycle of the seminiferous epithelium. 1—14 = Steps of the spermatids development during spermiogenesis. A = Type A spermatogonia. B = Type B spermatogonia. Pl = Preleptotene spermatocytes. L = Leptotene spermatocytes. Z = Zygotene. P = Pachytene. Di = Diplotene and diakinesis. SIM = The first meiosis division metaphase. SII = Secondary spermatocytes. SIIM = The second meiosis metaphase. Est = The earliest spermatids.

* 2—3 kinds of them present at the same time.

表 2 周期各阶段的相对持续时间

Table 2 Relative duration(%) of the stages of the cycle in the tree shrew, *Tupaia belangeri chinensis*

阶 段 (Stages of the cycle)	频 率 分 布 (% , $\bar{X} \pm S.E.$) (Frequency distribution)
I	7.31 ± 1.23
I	6.53 ± 1.49
II	7.66 ± 1.05
IV	6.87 ± 1.22
V	11.43 ± 2.19
VI	18.88 ± 1.08
VII	15.44 ± 1.56
VIII	4.57 ± 0.70
IX	3.78 ± 0.79
X	3.87 ± 0.74
XI	5.21 ± 0.86
XII	8.00 ± 0.73

(二) 生精细胞的形态特征

1. 精原细胞 根据核的形态及其所出现的阶段, 精原细胞可区分为精原细胞 A 和已分化定向的细胞 B。

A 型精原细胞: 大多靠近基底膜或贴于基底膜。在阶段 V—VII 会见到成对或成串分布(图 7)。胞核呈椭圆形或长椭圆形, 内含尘粒样均匀分布且多为浅染的染色质。未转向分化的 A 型细胞含 1 个或多个核仁, 其位置多数靠近核膜或贴于核膜。核仁周围无染色质附着, 有的表现为大小不一的非着色环(图 4)。当渐进性地转向分化时, 核和核仁的形态都发生了明显的变化。核变得不那么规则, 染色质开始沿核仁表面分布, 核仁位置偏离核膜并渐向中移, 核的体积逐渐增大, 核仁也随之增大且形态各异。至阶段 VII—VIII, 大多数 A 型细胞具有较多的分化细胞特征(图 14)。

B 型精原细胞: 核呈卵形或圆形, 有中位或偏中位的核仁。核内浓染的块状或粒状染色质, 游离或沿核膜和核仁表面分布。随着向更分化的世代进展, 核渐进性地变得更圆更小, 核膜和核仁表面所积聚的染色质变得更浓更厚(图 6)。刚形成的 B 细胞与具有转向分化形态的 A 细胞不易区别。随后, 早期的 B 细胞表现中间型细胞的形态, 到成熟时才具有 B 细胞的特征。

2. 精母细胞 刚形成的前细线期精母细胞具有类似最晚世代 B 细胞的形态, 但它的体积甚小, 离基底膜较远, 且成群分布。从初级精母细胞到次级精母细胞所经历的各

级形态变化,同其它哺乳类的大体一致。但在前细线期精母细胞中的染色质分布状态,晚细线期呈现的粒丝状,以及次级精母细胞的间期核的形态,与灵长类的有些接近(图7, 8, 12)。

3. 精细胞与精子 精子形成过程中顶体发育的形态学变化,以及扁平、桨状的成熟

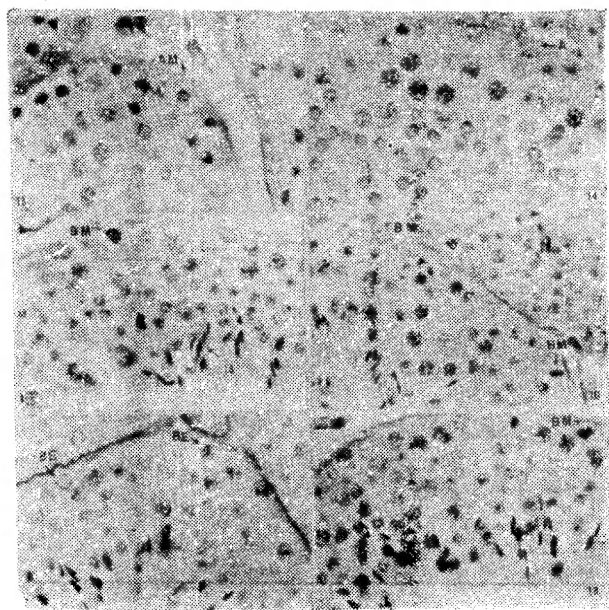


Fig.13 AM, dividing A spermatogonia in stage VII.

Fig.14 A, A cell morphologically transforming into differentiation in stage VII.

Fig.15 BM, dividing B in stage IV.

Fig.16 BM, dividing B in stages II—III.

Fig.17 BE, degenerative B.

Fig.18 BM, dividing B in early stage V.

精子的形态,同灵长类动物的有较多的类似之处。不同的是,帽期精细胞被顶体系统覆盖的核面积比灵长类的大。第6步精细胞被覆盖核面达1/2,而灵长类的仅1/4(Clermont等, 1959; Clermont, 1973)此外,第1步精细胞的高尔基区不如灵长类的分明(表1, 图1—12)。

(三) 精原细胞的数量变化

精原细胞和前细线期精母细胞与每100个足细胞之比列于表3。

1. A型精原细胞的数量变化 虽然A型精原细胞在周期各阶段均有分布,但其数量并不保持恒定。在阶段II—IV水平相近。自阶段V起,数量开始上升,在阶段VI—VII时成倍递增。至阶段VIII—IX,细胞进入有丝分裂的活性时期,此时可观察到即将分裂的体积明显增大的有丝分裂前期和中期的A型细胞(图13)。因此,至阶段IX时细胞数量又成倍增长。阶段X后,出现最早世代的B型细胞。

表 3 每100个足细胞中精原细胞和前细线期精母细胞在周期各阶段的数量($\bar{X} \pm S.E.$)

Table 3 The number of spermatogonia and preleptotene spermatocytes per 100 Sertoli cells in stages of the cycle

阶段 (Stage)	A型精原细胞 (Type A spermatogonia)	B型精原细胞 (Type B spermatogonia)	分裂的B型精原细胞 (Dividing B spermatogonia)	前细线期精母细胞 (Preleptotene spermatocytes)
I	3.89 \pm 1.58	28.89 \pm 3.44		
II	4.47 \pm 1.33	37.26 \pm 5.15		
V	5.30 \pm 1.49	76.98 \pm 8.44		
VI	10.75 \pm 1.35		9.05 \pm 3.55	
VII	11.04 \pm 1.67			196.99 \pm 8.82
IX	22.66 \pm 2.92			
X	5.74 \pm 2.39	23.78 \pm 5.13		

2. B型精原细胞的数量变化 阶段I和II的细胞数量之比, 同理论值相差较大。但阶段III、V、VII (pl) 之比, 接近于成倍增长。在B细胞所出现的各个阶段中, 均可观察到有丝分裂的B细胞, 但以阶段III、I—II、IV—V、VI更为多见, 阶段VI时B细胞的分裂活性最为旺盛, 其分裂指数见表3 (图6, 15, 16, 18)。

从B细胞数量的变化趋势和有丝分裂活性的表现, 可见它至少经历了约4次分裂增殖, 在阶段VI晚期产生前细线期精母细胞。

讨 论

(一) 精原细胞的形态和分类

与灵长类动物不同, 树鼩的A型精原细胞分不出明显的深色A细胞 (Ad)。即使在有些阶段可观察到少数A细胞着色偏深, 但其形态、数量、出现的位置和阶段等, 没有一定的规律性。树鼩的A型细胞绝大多数显示浅的着色, 在形态上同大鼠、小鼠的未分化的A型精原细胞和转向分化的A₁细胞相比, 也存在一定的差异。

树鼩的B型精原细胞核染色质的积聚状态略似于灵长类动物的B细胞状态, 而与啮齿类所表现的大块状分布不同 (图6)。

(二) 精细胞与精子的形态

上述结果表明, 在精子形成过程中, 树鼩的精细胞, 其顶体发育所表现的形态学改变和成熟精子的形态, 同灵长类动物的类似; 而与啮齿类动物 (大鼠、小鼠) 精细胞的顶体特征, 及镰状精子的形态相比, 存在明显的差异。然而, 由于这些特征在其它哺乳类动物也有, 因此不能作为亲缘关系密切的特有证据。

(三) 精原细胞的数量及更新

在啮齿类动物中, 精原细胞退化现象十分普遍 (Huckins, 1978)。Chowdhury (1976) 发现灵长类动物橄榄狨的B型精原细胞也有退化现象。在本研究中, 也观察到类似的情

况,但并不很普遍(图17)。从表3可见,在阶段Ⅲ与Ⅰ时B细胞数值之比没有达到理论值水平,而阶段Ⅴ和Ⅶ同阶段Ⅰ之比,也只分别为理论值的68.7%和87.6%。这可能与B细胞的退化有一定的关系。

在整个上皮周期中,树鼩的A型精原细胞数量并不保持恒定。从表3可知,阶段Ⅴ、Ⅶ、Ⅷ与阶段Ⅰ的数量之比,分别为1.36、2.84、5.83;阶段Ⅴ与Ⅲ、Ⅶ与Ⅴ、Ⅷ与Ⅶ之比,分别为1.19、2.08、2.05。A型精原细胞在产生定向分化的B细胞之前,出现两个明显的增长峰,第一个始于阶段Ⅵ,持续到阶段Ⅶ,第二个出现在阶段Ⅷ。

灵长类动物的深色A型精原细胞(Ad),在整个周期中的数量保持恒定;浅色A型精原细胞(Ap)除了在阶段Ⅶ—Ⅷ成倍增长外,其余者也是保持恒定。而且,在Ⅶ—Ⅷ以外的其余阶段,Ad(贮备干细胞)与Ap(更新干细胞)之比为1或接近1(Clermont等,1959; Clermont, 1969; Clermont等, 1973; Chowdhury, 1978)。

显然可见, A型精原细胞在周期中的数量动态,树鼩与灵长类间表现不同。

根据A型精原细胞在周期各阶段数量变化的趋势,以及它们的大多数有转向分化的形态学改变,推测树鼩的精原细胞更新类型,同Oakberg (1971) Huckins (1978) 对啮齿动物的假设,有某些相似之处。

参 考 文 献

- Clermont, Y. and C. P. Leblond 1959 Differentiation and renewal of spermatogonia in the monkey. *Macacus rhesus*. *Am. J. Anat.* 104:237—273
- Clermont, Y. 1969 Two classes of spermatogonia stem cells in the monkey (*Cercopithecus aethiops*). *Am. J. Anat.* 126:57—72
- Clermont, Y. 1972 Kinetics of spermatogenesis in mammals: Seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol. Rev.* 52:198—236
- Clermont, Y. and M. Antar, 1973 Duration of the cycle of the seminiferous epithelium and the spermatogonial renewal in the monkey (*M. arctoides*). *Am. J. Anat.* 138:153—166
- Chowdhury, A. K. and E. Steinberger, 1976 A study of germ cell morphology and duration of spermatogenic cycle in the baboon, *Papio anubis*. *Anat. Rec.* 185:155—170
- Chowdhury, A. K. 1978 Studies on mammalian spermatogenesis: The baboon—a model for the study of human spermatogenesis. In *Animal models for research on contraception and fertility*, ed. by Alexander, N. J. Harper & Row, Publishers, Cambridge. 385—395
- Huckins, C. 1971 The spermatogonial stem cell population in adult rats, I. Their morphology, proliferation and maturation. *Anat. Rec.* 169:533—558
- Huckins, C. and E. F. Oakberg 1978 Morphological and quantitative analysis of spermatogonia in mouse testes using whole mounted seminiferous tubules. 1. The normal testes. *Anat. Rec.* 192:519—528
- Huckins, C. 1978 The morphology and kinetics of spermatogonial degeneration in normal adult rats: An analysis using a simplified classification of the germinal epithelium. *Anat. Rec.* 190:905—926
- Oakberg, E. F. 1971 Spermatogonial stem-cell renewal in the mouse. *Anat. Rec.* 169:515—532

CYTOLOGICAL OBSERVATION ON SPERMATOGENESIS IN THE TREE SHREW (*Tupaia belangeri chinensis*)

Cao Xiaomei

(Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica)

Cytology and kinetics on spermatogenesis in testes from 8 adult tree shrews were investigated by PAS-H technique. It is possible to distinguish the spermatogonia type A from type B. The cycle of seminiferous epithelium is divided into 12 successive stages. Typical cell associations in different stages are discriminated. Type A spermatogonia are present in all stages; type B in stages X—VI; preleptotene spermatocytes (Pl) occur during late stage VI; pachytene spermatocytes (P) begin at late stage X and disappear in stage XII of next cycle; the second meiosis takes place in stage XII. The spermatids undergo 14 steps of development during spermiogenesis and the spermatozoa are mostly released in stage VI. The relative durations (%) of V, VI, VII are the highest (11.43, 18.88, 15.44, respectively) and X, XI the lowest (3.78 and 3.87). The quantitative distributions of type A in different stages are inconstant, and double in stages VI—VII and X. Average number of B and Pl per 100 Sertoli cells in stages I, II, V, VII are 28.89, 37.26, 76.98 196.99, respectively. The morphology of acrosomic development and mature spermatids appear similar to those of primates, except that the nuclear surfaces of spermatids are much covered by headcap and Golgi zone in step 1 is unclear.

Key words Tree shrew Spermatogenesis

Cycle of seminiferous epithelium Cell associations

Kinetics Germ cell morphology